

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Studentka: Michaela Mužíková

Školitelka: PharmDr. Lucie Smutná, Ph.D.

Název diplomové práce: Využití geneticky modifikovaných buněčných linií ke studiu transportních procesů v ledvinných *in vitro* modelech

Transportní procesy v ledvinných buňkách z velké části zajišťují transportéry proximálních tubulů umožňující exkreci a reabsorpci různých endogenních i exogenních látek včetně xenobiotik. Z velkého množství transportních proteinů jsme pro studium zvolili glykoprotein megalin (LRP2), receptor účastnící se reabsorpce albuminu a dalších tělu vlastních látek, např. inzulinu nebo hemoglobinu. Mezi ligandy LRP2 z řad xenobiotik řadíme peptidová a aminoglykosidová antibiotika, zastoupená např. gentamicinem.

Diplomová práce se zabývá vývojem a využitím *LRP2* knockoutovaných buněčných linií v akumulačních studiích. Experimenty jsme prováděli na liniích přirozeně exprimujících LRP2, JEG-3 a HK-2. S využitím metody CRISPR/Cas9 bylo připraveno několik geneticky modifikovaných buněčných linií s nefunkčním LRP2 receptorem, a tedy i s narušenou schopností endocytovat modelové ligandy (jako je albumin nebo gentamicin), což potvrdily akumulační studie s užitím FITC-albuminu. Akumulace FITC-albuminu u modifikovaných linií prokazatelně poklesla.

Další část experimentů představují toxicitní studie zaměřující se na omezení buněčné toxicity gentamicinu založené na ovlivnění akumulace antibiotika v buňkách vlivem poškozené funkce LRP2 receptoru. Studie byly provedeny na modifikovaných buňkách a porovnány se základními nemodifikovanými liniemi JEG-3 a HK-2. Editované buňky se sníženou schopností internalizovat ligandy LRP2 vykazují prokazatelně vyšší viabilitu ve srovnání s nemodifikovanými liniemi.